

棉蚜对“1059”抗药性的测定

龔坤元 張桂林 翟桂榮

(中国科学院动物研究所)

一、前言

近十年来,各种农业害虫对杀虫剂的抗药性,已陆续被发现。其中关于蚜虫的抗药性,虽然亦有记述,但增加抗药性的倍数不多,并不发展得很严重。例如,Michelbacher (1954)曾报导,核桃蚜 (*Chromaphis juglandicola* Kltb.) 对 1605 的抗性为 7 倍; Knipling (1954) 报导,红薯蚜 (*Macrosiphum solanifolii* Ashm.) 对 DDT 及 1605 有抗性; Anthron (1955) 报导,桃绿蚜 (*Myzus persicae* Sulzer) 对 1605 有抗性,但用 1059 防治,效果仍很好; Stern (1958) 报导,苜蓿斑蚜 (*Therioaphis maculata* Buckton) 对 1605 的抗性约 4 倍。

棉蚜 (*Aphis gossypii* Glov.) 对 666 的抗性,有不少记载 (Knipling, 1954; Gaines, 1957; Brown, 1958), 但并没有较详细的报道。Stern (1958) 曾说过,美国棉花区域内,还没有发现棉蚜对杀虫剂有显著的现象。至于棉蚜对有机磷杀虫剂的抗性,到目前为止,在国际上还没有报道过。

我国广大棉区先后使用 666、1605、1059 来防治棉蚜,在群众中早有防治效果逐步减退的反映,但尚未证实,这是由于棉蚜发生抗性而造成的后果。

1963 年 6 月间,农业部先后接到若干棉区的反映,使用 1059 防治棉蚜效果不好。作者受农业部的委托去河北晋县进行对棉蚜的抗性调查与测定,以便寻找 1059 防治棉蚜失效的原因。经过在当地实地调查与测定及比照在北京非防治区棉蚜的抗性测定的结果,肯定了 1059 防治棉蚜失效的主要原因是由于该地棉蚜对 1059 发生较大的抗性而造成的。

二、测定方法

测定一个地区的棉蚜是否有抗药性,必须寻找未经化学防治的棉田作为对照。但我国广大棉区中间,早已大量使用了有机磷杀虫剂。欲在主要棉区中寻找未经防治的对照区是没有可能的。北京市的郊区的作物,以粮食及蔬菜为主,棉花种植得很少。北京中关村动物研究所的试验地,种植了一些棉花,作为观察棉蚜生活习性之用,没有施用过药,附近亦没有其他棉田,离沙河区的棉田约 30 公里。因此,是测定抗性的很好的对照区。

测定蚜虫抗药性,目前还没有统一规格的标准方法。Michelbacher (1954) 曾用真空喷粉器,喷洒 0.5% 的 1605 粉剂,在 4 小时内计算它的致死中量 (LD_{50}), 来决定核桃蚜对

1605 的抗性强度。Stern (1958) 用不同浓度的 1605 处理苜蓿枝叶, 然后将苜蓿斑蚜接种在上面, 在 24 小时内计算它的致死中浓度 (LC_{50}), 来决定苜蓿斑蚜的抗性强度。

用以上两种方法来测定蚜虫的抗性的缺点是: 1) 采用间接方法来测定蚜虫的抗性, 不是用达到蚜虫身上的绝对量来决定抗性; 2) 这两种方法都比较粗放, 不如用点滴的方法精确。

用点滴法测定蚜虫的抗性, 虽然是一种良好方法, 但由于棉蚜体躯微小, 用一般的微量注射器来点滴, 已不能满足需要。因为, 用一般微量注射器, 如果滴出的药液少于 1 微升, 实际滴出的药量就不十分精确, 误差要大于 5%。棉蚜体躯微小, 每次点滴量只需百分之几微升。因此, 不能用一般的微量注射器来点滴。Kerr (1954) 曾用内径 0.2 毫米的毛细管来点滴果蝇, 这个方法虽然可以点滴 0.035 微升以下的药量, 但需要反光镜等设备, 操作起来并不很方便, 而且通过显微镜来观察它的流量, 亦不可能掌握得十分正确; Jones 及 Perry (1959) 把白金制的微圈 (microloop), 加以改进, 成为尖端形的微圈, 便于点滴较小的昆虫, 但它的点滴量不能小于 0.1 微升。

最近看到 Harrison (1961), 设计的毛细管点滴器, 用作点滴红蜘蛛。两者形式虽然不同, 但设计原理基本上是相同的。

作者在 1962 年曾进行微量快速生物测定方法的研究(尚未发表), 为了研究工作的需要, 设计了毛细管微量点滴器, 使用方法既简便又精确, 可以满足测定棉蚜抗性的需要。

毛细管微量点滴器是由毛细管及玻璃管两个主要部分构成的。毛细管是用管壁较厚的玻璃管拉成的, 它的内径约 80 微米, 长约 0.5 厘米。这样滴出的量约 0.03 微米, 适用点滴一般大小的蚜虫(如果点滴小型的蚜虫, 可把毛细管的内径缩小到 50 微米左右)。所用的玻璃管长约 2.5 英寸, 内径约 2.5 毫米。把玻璃管的一端拉尖并吹成卵圆形, 然后把毛细管的二分之一长度插在里面(图 1), 用石蜡将毛细管固定在里面。在玻璃管的另一端, 配上个橡皮吸头或橡皮管, 作为压出或吹出药液之用。这就是点滴器的全部构造。毛细管的容积可用同位素稀释方法来测定。

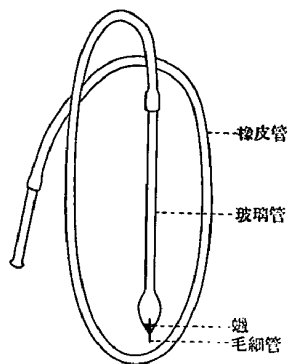


图 1 毛细管微量点滴器的构造

点滴时需要两人同时操作, 一人手持点滴器, 将毛细管的尖端, 伸入盛有 1059 丙酮溶液的器皿内蘸取药液。由于微管引力的作用, 药液自毛细管上升, 充满全毛细管, 即将这些药液滴在新采棉叶上的、较大的黄色棉蚜身上; 另一人手持细毛笔, 立刻将已点滴的棉蚜移入直径约 5 厘米的培养皿内, 滴满 30 头棉蚜后, 即将培养皿盖好, 并用胶布将缝口封好, 以防棉蚜爬逸。一小时后即检查效果, 如果死亡率过低或过高, 应重配制浓度, 重行试验。

用这方法曾比较: 1) 1059、1605 及甲基 1605 三种重要治蚜杀虫剂对晋县农场的棉蚜(抗性种)及北京中关村的棉蚜(正常种)的效果; 2) 1059 对晋县农场、晋县王石碑庄、石家庄及北京中关村四个地区的棉蚜的效果。

测定结果的分析是采用 Litchfield 及 Wilcoxon (1949) 的简单计算药效反应的方法来计算毒力回归线、 LC_{50} 、 LC_{95} 等项。并用同位素稀释方法来测定毛细管的容积。最后

根据三种有机磷各自的比重,来换算它们的致死中量 (LD₅₀), 即

LD₅₀ (微克/蚜) = 毛细管容积(微升) × LC₅₀ × 比重 × 1000

用同位素稀释方法测定所用的毛细管的容积为 0.0295 微升。1059、1605、甲基 1605 三种有机磷的比重分别为 1.118、1.265、1.358。因此, 上述三种有机磷, 自 LC₅₀ 换算成 LD₅₀ 应为:

1059 LD₅₀ = LC₅₀ × 0.0295 × 1.118 × 1000 = LC₅₀ × 32.981
1605 LD₅₀ = LC₅₀ × 0.0295 × 1.265 × 1000 = LC₅₀ × 37.318
甲基 1605 LD₅₀ = LC₅₀ × 0.0295 × 1.358 × 1000 = LC₅₀ × 40.061

这里必须指出,如果没有条件,用同位素稀释方法来测定,所使用毛细管的容积。如果在一系列测定抗性工作中,用同样一支毛细管点滴,所得出的 LC₅₀。用 LC₅₀ 同样可以用作相对抗性强度的比较。

除上述用点滴法测定棉蚜的抗性外,曾用轻便喷雾筒的喷雾方法(龔坤元等, 1963), 比较几种重要有机磷杀虫剂对棉蚜的效果,以作今后田间使用的参考。

三、抗性测定的结果

用点滴方法测定棉蚜对 1059、1605、甲基 1605 的抗性,除在石家庄农科所测定的数据不够完整外,在其他地区测定的结果都比较好。兹将点滴的结果,列如表 1。

表 1 棉蚜在不同地区对 1059、1605、甲基 1605 的抗性比较

毒 力 迴 归 綫	斜 度 (b)	LC ₅₀ (%)	LC ₉₅ (%)
晉县农場 1059	1.96	0.468	3.17
晉县王石碑庄 1059	3.13	0.174	0.589
石家庄农科所 1059 ¹⁾	—	0.108	—
北京中关村 1059	4.05	0.00347	0.00777
晉县农場 1605 ²⁾	3.33	0.371	1.08
北京中关村 1605	2.63	0.0159	0.0631
晉县农場甲基 1605	3.57	0.0389	0.11
北京中关村甲基 1605	1.85	0.124	0.795

1) 由于数据不全,大致估计了 LC₅₀。
2) 晉县农場棉蚜用 1605 测定时采用了另外一根毛细管,容积稍有相差,表中所记载的数据是校正后的数据。

从上述测定的结果,根据毛细管的大小及三种有机磷的比重,分别换算它们的 LD₅₀ 及 LD₉₅,以便比较抗性发展的情况。

(一)不同地区的棉蚜对 1059 的抗药性 根据点滴法测定的结果,北京中关村、石家庄农科所、晉县王石碑庄、晉县农場四个地区的棉蚜对 1059 的抗药性有显著差别(表 2、图 2)。以 LD₅₀ 来计算,如以北京中关村的棉蚜的 LD₅₀ 为一,则晉县农場、晉县王石碑庄、石家庄农科所(从三个浓度估计)的棉蚜抗性的倍数应分别为 135.1、50.4、31.2; 以 LD₉₅ 来计算,同样以北京中关村的棉蚜的 LD₉₅ 为一,则晉县农場、晉县王石碑庄的棉蚜的抗性倍数,分别为 410.2、75.7。这三处毒力回归綫的斜度随抗性增加而变小(图 2)。

表 2 不同地区的棉蚜对 1059 的抗性比较

棉蚜采集地点	LD ₅₀ (置信界限) 微克/蚜	相 对 倍 数	LD ₉₅ 微克/蚜	相 对 倍 数
晋县农場	0.154(0.211—0.113)	135.1	1.05	410.2
晋县王石碑庄	0.0574(0.0696—0.0476)	50.4	0.194	75.7
石家庄农科所 ¹⁾	0.0356	31.2	—	—
北京中关村	0.00114(0.0013—0.00101)	1	0.00256	1

1) 石家庄农科所采集的棉蚜在测定时,由于数据不足, LD₅₀ 只是相仿的估计。

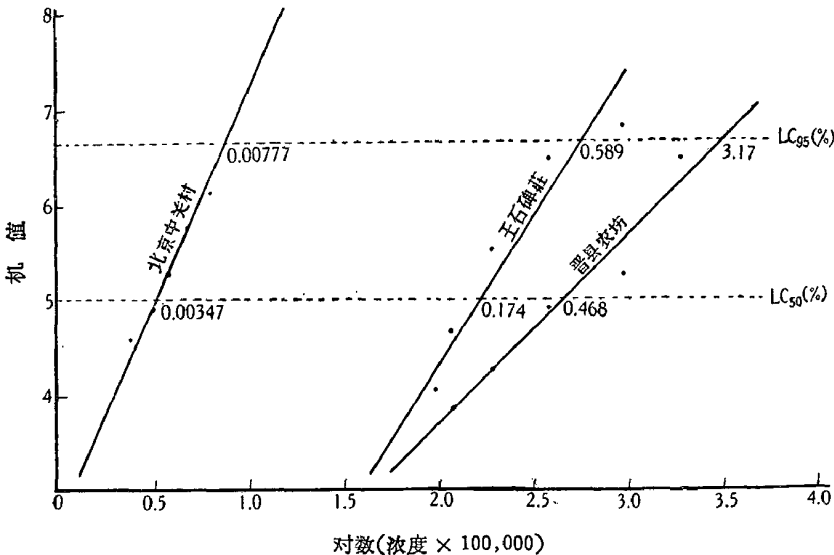


图 2 不同地区的棉蚜对 1059 的毒力迴归綫
(图中 LC₉₅ 及 LC₅₀ 已化为原浓度)

(二)晋县农場的棉蚜(抗性种)与北京中关村棉蚜(正常种)对 1059、1605、甲基 1605 的反应 根据微量点滴的结果,晋县农場的棉蚜与北京中关村的棉蚜,对 1059、1605、甲基 1605 的反应,产生相反的结果:晋县农場的棉蚜,由于对 1059 发生了抗性,因而,以 1059 的效果最差 (LD₅₀ = 0.154 微克/蚜), 1605 的效果次之 (LD₅₀ = 0.139 微克/蚜), 甲基 1605 的效果最好 (LD₅₀ = 0.0156 微克/蚜)。如以 1059 对晋县农場的棉蚜的相对毒性为 1.0, 则 1605、甲基 1605 对晋县农場棉蚜的相对毒性分别为 1.11、9.87。

北京中关村的棉蚜,由于对 1059 没有发生抗性,因而,1059 的效果最好 (LD₅₀ = 0.00114 微克/蚜), 1605 的效果次之 (LD₅₀ = 0.00593 微克/蚜), 甲基 1605 的效果最差 (LD₅₀ = 0.0497 微克/蚜)。如以甲基 1605 对北京中关村的棉蚜的相对毒性为 1.0, 则 1605、1059 对北京中关村的棉蚜的相对毒性,分别为 8.38、43.6 (表 3, 图 3、4)。两地棉蚜对 1059 及甲基 1605 的相对毒性,产生相反的结果,这亦意味着,晋县农場的棉蚜发生了较高的抗性。

从 1605 对两处的棉蚜不同的反应情况来看,晋县农場的棉蚜已略有抗性,如以 LD₅₀ 来计算,它的抗性为 23.6 倍;如以 LD₉₅ 来计算,它的抗性为 17.4 倍。

甲基 1605 的情况,对晋县农場的棉蚜较对北京中关村的棉蚜的毒性,反而大一些。相差 3.2 倍(以 LD₅₀ 计算)或 7.2 倍(以 LD₉₅ 计算)(表 4)。

表 3 晉县農場的棉蚜与北京中关村的棉蚜对 1059、1605、甲基 1605 的反应

地点及用藥种类	LD ₅₀ (置信界限) 微克/蚜	相 对 毒 性	LD ₉₅ 微克/蚜	相 对 毒 性
晉县农場				
1059	0.154(0.211—0.113)	1	1.05	1
1605	0.139(0.165—0.117)	1.11	0.409	2.6
甲基 1605	0.0156(0.0182—0.0133)	9.87	0.0441	23.8
北京中关村				
1059	0.00114(0.0013—0.00101)	43.6	0.00256	125
1605	0.00593(0.00734—0.00478)	8.38	0.0235	13.5
甲基 1605	0.0497(0.0669—0.0368)	1	0.319	1

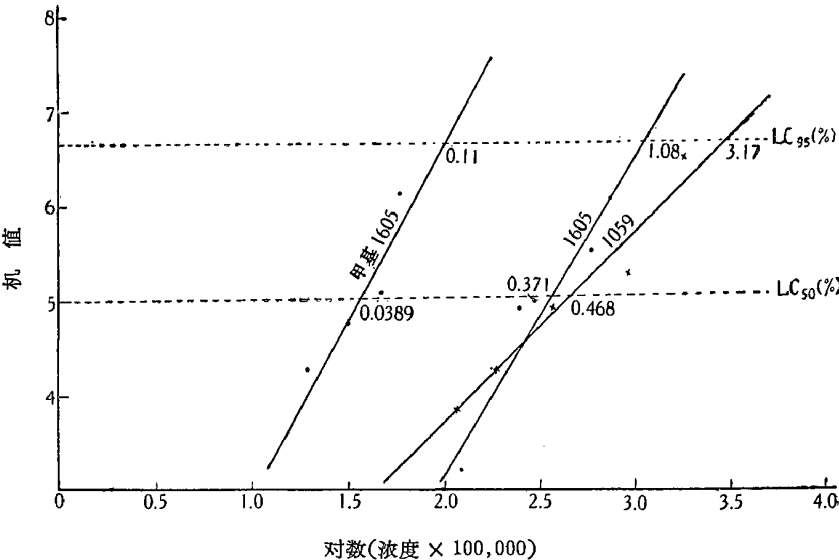


图 3 晉县農場的棉蚜对 1059、1605、甲基 1605 的毒力迴归綫(图中 LC₉₅ 及 LC₅₀ 的数值已化为原浓度)

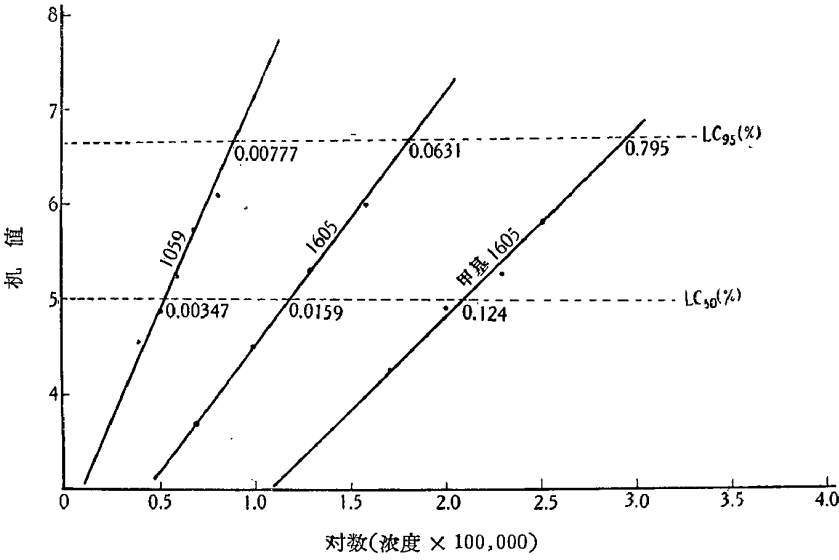


图 4 北京中关村的棉蚜对 1059、1605、甲基 1605 的毒力迴归綫(LC₉₅ 及 LC₅₀ 的数值已化为原浓度)

表 4 北京中关村棉蚜与晋县農場棉蚜对 1605 及甲基 1605 的抗性比較

用藥及采集地点	LD ₅₀ (置信界限) 微克/蚜	相 对 倍 数	LD ₅₀ 微克/蚜	相 对 倍 数
1605				
晉县农場	0.139(0.165—0.117)	23.6	0.409	17.4
北京中关村	0.00593(0.00734—0.00478)	1	0.0235	1
甲基 1605				
晉县农場	0.0156(0.0182—0.0133)	1	0.0441	1
北京中关村	0.0497(0.0669—0.0368)	3.2	0.319	7.23

(三)几种有机磷杀虫剂对晋县农場棉蚜(抗性种)的毒性 我們曾用甲基 1605、1605、1059、甲基 1059、三硫磷、乐果等六种有机磷杀虫剂用噴霧的方法(輕便噴霧筒)測定对棉蚜的毒性,其中前 4 种有机磷曾重复两次。試驗結果,很明显,以甲基 1605 的效果最好,死亡率在 85% 以上;1059、甲基 1059、1605 的效果次之,死亡率在 25—35% 之間;三硫磷及乐果較差,死亡率在 15% 左右(表 5)。但所用的三硫磷及乐果的純度不很穩定,因此所得的数据仅作参考。

表 5 几种有机磷杀虫剂对晋县農場棉蚜的毒性

藥 名	次 数	死 虫 数	总 虫 数	死 亡 率 (%)
1059	1	48	151	31.5
	2	48	146	32.8
甲基 1059	1	77	241	31.8
	2	68	199	34.1
1605	1	38	134	28.3
	2	49	182	26.9
甲基 1605	1	87	98	88.9
	2	104	120	86.6
三 硫 磷	1	13	94	13.8
乐 果	1	21	134	15.6

四、討 論

(一)晉县是我国重要的产棉区,自 1953 年起开始使用 1605 防治棉蚜。1957 年后开始使用 1059。1059 杀蚜效果高,內吸性強,能使用快速噴霧法,节省劳动力。因此,一經推广,立即受到羣众欢迎,使用数量逐年增加,1605 的使用逐年減少。該区大量使用 1059 已有 6—7 年之久,发生抗性的可能性是很大的。1605 的使用亦有一定的時間,因此,对 1605 亦有一定的抗性,亦是很自然的。

(二)葯剂的使用方法,葯剂本身的质量,防治时的气候条件以及棉蚜的发生量,都可以影响葯剂的防治效果。根据作者調查的結果,这些因子虽然亦多少影响了防治效果,但都不是影响防治效果显著減退的原因。

晉县是老棉区,羣众使用 1059 已有 6—7 年的历史,有比較成熟的經驗,他們普遍采用針筒抽取葯液的办法,来配制葯液。因此,用量比較准确,噴射技术亦比較熟練。近年

来,虽然每亩用水量比较少一些,可能影响一些药效。但从晋县的具体情况分析,技术条件较好的北部棉区的防治效果,反而不如技术条件较差的南部棉区。就很难说是使用不当而引起的后果。

从药剂质量上看,过去大家对 1059 的信用很好。去年由于羣众反映防治差,专署农林局曾将 1059 的各种样品 40 余个,送化工部检验,结果都合乎规格。今年晋县曾带两个样品,由我所检验,两样品的全磷量都合乎标准,生物测定的结果与化学纯的 1059 及所内原存的 1059 的结果亦没有显著的差别。从这些情况看,当前 1059 在质量上并不存在严重问题。

今年棉蚜的发生量确实较往年为多。但今年河北省棉蚜发生量较多,是全省普遍的现象,不仅是晋县一个地区的情况。省植保所用 1059 在保定防治棉蚜效果很好,但用同一瓶内取出的 1059 去晋县防治效果很差。因此,棉蚜发生量较多,也不是防治效果减退原因。

(三)晋县棉蚜对 1059 的抗性增加,从当地历年来化学防治的效果中完全可以觉察到: 1)使用量每年逐渐上升。1957 年开始使用时,每亩一次用量仅 4 毫升(50%乳剂),效果已很显著。后来增至 6—8 毫升,最近已增至 15 毫升,甚至还有 30 毫升的。2)防治次数逐渐增多。过去防治棉蚜,在麦收前后使用 2、3 次,即已有显著成效。今年在晋县北部地区,普遍使用过 5 次,不少地区已达 6、7 次,捲叶率仍高,尚未完全见效。3)作用时间逐渐延长。该地区最初使用 1059 时,施药后在 2、3 小时内即有大批蚜虫下落,16 小时内可完全落尽。以后蚜虫下落时间逐渐延长,但也不出 24 小时范围。今年情况则很悬殊,在棉苗时期,当时温度较低(20℃左右),在 24 小时内蚜虫尚无显著下落,直到 48 小时才看出效果。七月份天气较热(30℃左右),下落较快,但亦需在喷药后 24 小时左右才看出效果。

(四)在国际文献中,还没有看到用微量点滴法来求蚜虫的 LD_{50} 的。Michelbacher 等(1954)曾用真空喷粉的方法,求核桃蚜(*Chromaphis juglandicola* Kltb.)的 LD_{50} ,但他所求出的 LD_{50} 是从总的喷粉量来推算的,并非接触棉蚜的绝对量。因此,他所得的 LD_{50} 很大,抗性种的 LD_{50} 为 140 毫克(0.5% 1605 粉剂),正常种的 LD_{50} 为 20 毫克。Gasser(1951)曾用饲喂的方法,测定 1605 对蚕豆蚜(*Aphis fabae*)的 LD_{50} 为 0.0005 微克/蚜,此数与 1605 对北京中关村棉蚜的 LD_{50} (0.00593 微克/蚜)尚小十余倍。这种引起相差的原因可能由于: 1)采取的测定方法与蚜虫种类不同; 2)作者采用的方法,观察时间较短,因此所计算的 LD_{50} 应偏高一些。

(五)用毛细管点滴器点滴量在 0.03 微升左右的误差仅在 3% 以下较用微量注射器正确(另文详细论述),操作亦很方便,清洗亦比较容易,但毛细管的内径很小,有时要堵塞,因此在使用的时候要防止灰尘侵入。

五、結 論

(一)用微量毛细管点滴器来测定棉蚜抗性是切实可行的良好方法。此方法既简单又准确,并且可以点滴 0.006—0.03 微升的微量,同时可采用 LC_{50} 或 LD_{50} 来比较不同地区的抗性。

(二)根据测定与调查的结果, 晋县棉蚜对 1059 已发生抗性是完全肯定的, 不同地区抗性的差别与各地历年用药情况有明显的关系。从北京中关村、王石碑庄、晋县农场三处棉蚜对 1059 的毒力回归线的斜度来看, 抗性愈大, 斜度愈小。这种现象亦符合抗性发展的规律。

(三) 1059 的效果对北京中关村的棉蚜比甲基 1605 好, 是符合正常状态; 1059 的效果对晋县农场棉蚜不如甲基 1605, 是发生抗性后, 产生的后果。

参 考 文 献

- 冀坤元、高锦亚、翟桂荣 1963. 卵形玻璃喷头的性能。昆虫知识 7(1):3—9。
- Anthon, E. W. 1955. Evidence for green peach aphid resistance to organophosphorus insecticides. *Jour. econ. Ent.*, 48(1):56—7.
- Brown, A. W. A. 1958. The spread of insecticide resistance in pest species. *Advance in pest control research*, 2:351—414.
- Brown, A. W. A. 1963. Insecticides and world health. *Pest Control* 31(4):18—25.
- Gaines, R. C. 1957. Resistance to insecticides. *Agr. Chem.*, 12(4):41.
- Gasser, R. 1951. Transactions of the 9th International Congress of Entomology, Amsterdam, 2:1037.
- Harrison, R. A. 1961. Topical application of insecticide solutions to mites and small insects. *New Zealand J. Science*, 4(3):534—9.
- Jones, J. C. & A. S. Perry. 1959. A nib-point microloop and its calibration. *Mosq. News* 19(1):26.
- Korr, R. W. 1954. A method for the topical application of small measured insects. *Bull. entomol. Res.*, 45:317—21.
- Knipling, E. F. 1954. A report on the insecticide resistance problem. *Agri. Chem.*, 9(6):46—7, 155.
- Litchfield, J. T. & F. Wilcoxon. 1949. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J. Pharmacol. and exper. Therap.* 96:99—1113.
- Michelbacher, A. E. et al. 1954. Walnut aphid resistant to parathion in Northern California. *J. econ. Ent.*, 47(2):366—7.
- Stern, V. M. et al. 1958. Resistance of the Spotted Alfalfa Aphid to certain organophosphorus insecticides in Southern California. *J. econ. Ent.*, 51(3):312—6.

DETECTING AND MEASURING THE RESISTANCE OF COTTON APHIS TO SYSTOX

KUNG, K. Y., CHANG, K. L. & CHAI, K. Y.

(*Institute of Zoology, Academia Sinica*)

In recent years cotton aphid, *Aphis gossypii* Glov., has become difficult to control with systox, at some places in the northern cotton belt of China. Samples of this insecticides subjected to show they were in good conditions according to chemical analysis and biological tests. This information, herein reported, indicates that the cotton aphid may have developed resistance to systox under field conditions.

A special capillary tube was designed for detecting and measuring resistance of this aphid to systox quantitatively. This capillary tube, consisting of a glass tube and a fine glass capillary, can be manipulated to a drop below 0.03 ml. The coefficient of variation, for deliveries of 0.03 ml. acetone solution, was below 3% by the method of the isotope dilution technique.

Preliminary tests indicate that the resistance of the Ch'in Hsien strain (resistant strain) was much higher than aphids from any other places and was 135 times or 410 times, higher than the Peking strain (susceptible strain) either with respect to LD₅₀ or LD₉₅.

There is no cross resistance between the systox and the methyl parathion. The latter one is still maintaining a good control of this aphid for the time being.